

0 / 520771

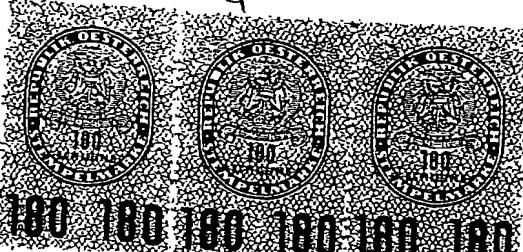
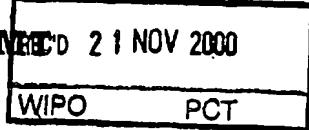
10 JAN 2005

PCT/AT 00/00252



ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT

AT 60/152 A-1014 WIEN, KOHLMARKT 8 - 10



Aktenzeichen A 1635/99

Das Österreichische Patentamt bestätigt, dass

**Dr. Mehrabi Mohammad Reza
in A-1160 Wien, Gaullachergasse 18/7,**

am 24. September 1999 eine Patentanmeldung betreffend

"Arzneimittel zur Behandlung der Herzkrankheiten",

überreicht hat und dass die beigeheftete Beschreibung samt Zeichnungen mit der ursprünglichen, zugleich mit dieser Patentanmeldung überreichten Beschreibung samt Zeichnungen übereinstimmt.

Es wurde beantragt, Dr. Mehrabi Mohammad Reza in Wien, als Erfinder zu nennen.

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Österreichisches Patentamt
Wien, am 4. Oktober 2000

Der Präsident

i. A.



HRNCIR
Fachoberinspektor

BEST AVAILABLE COPY



STERREICHISCHES PATENTAMT
Verwaltungsstellen-Direktion

...260,- S. 18,89..... €
Kanzleigebühr bezahlt.

Ballaer

A1635/99-108926 Urtext

51 Int. Cl. :

AT PATENTSCHRIFT

11 Nr.

(73) Patentinhaber: Dr. Mehrabi Mohammad Reza

(54) Gegenstand: Arzneimittel zur Behandlung der Herzkrankheiten

(61) Zusatz zu Patent Nr.

(66) Umwandlung aus GM

(62) Ausscheidung aus:

(22)(21) Angemeldet am:

(30) Priorität:

(42) Beginn der Patentdauer:

Längste mögliche Dauer:

(45) Ausgegeben am:

(72) Erfinder: Dr. Mehrabi Mohammad Reza

(60) Abhängigkeit:

(56) Entgegenhaltungen, die für die Beurteilung der Patentierbarkeit in Betracht gezogen wurden:

00268206

Dr.Mohammad Reza MEHRABI

A-1160 Wien, Gaullachergasse 18/7, Tel / Fax: 407 14 13

Titel:

Verwendung von Alprostadil (Prostaglandin E 1) zur Behandlung von chronischer Herzinsuffizienz und Kardiomyopathie

Definition der Krankheit

Cardiomyopathie (CMP) ist eine Krankheit die zur Vergrößerung des Herzmuskels und zu Herzmuskelschwäche führt. Aufgrund der Herzmuskelschwäche kommt es zu einer verminderten Pumpfunktion und Auswurffraktion des Herzens. Die Pathogenese der dilatativen Cardiomyopathie ist nach wie vor unbekannt. Die ischämische Cardiomyopathie kann auf Myokardinfarkt(e) zurückzuführen sein, da die abgestorbenen Herzmuskelareale durch Bindegewebe ersetzt werden. Dieser Herzmuskelersatz aus Bindegewebe kann jedoch keine kardialen Funktionen ausführen. In Folge kommt es zu einer Reduzierung der Herzmuskelfunktion und zur Wasseransammlung in der Lunge und in den unteren Extremitäten. Die Folgen sind starke Atemnot, Unbelastbarkeit und Müdigkeit.

2. Stand der Diagnose

Die Diagnose dieser Krankheit besteht aufgrund der Herzmuskelschwäche aus der typischen klinischen Symptomatik wie allgemeine Schwäche, körperliche Unbelastbarkeit, Atemnot unter Belastung und in Ruhe, rezidivierenden Lungenödem sowie Verschlechterung der Laborparameter mit pathologischem Anstieg der Nieren- und Leberparameter und einem gestörten Elektrolythaushalt. Echokardiographisch zeigt sich ein vergrößertes Herz mit reduziertem Auswurf sowie inhomogenem Kontraktionsmuster. Patienten mit dilatativer CMP haben anamnestisch keinen Myocardinfarkt und bei der Koronarangiographie wird keine (wirksame) Koronarsklerose festgestellt.

3. Stand der Therapie

Patienten mit CMP werden für eine Herztransplantation (HTX) angemeldet und medikamentös mit ACE-Hemmern, (β - Blocker), Diuretika und Digitalis behandelt.

008926

4. Unbekannte Eigenschaften der Alprostadil (Prostaglandin E1)

In einer vorangegangenen Studie erhielten mehrere Patienten mit Kardiomyopathie, darunter 9 Patienten mit dilatativer CMP vor HTX zusätzlich eine Alprostadil (PGE1) Infusionstherapie.

Die Einschlußkriterien für die Alprostadil (PGE 1) Studie waren:

- a. Patienten waren in ihrer täglichen Aktivität schwerwiegend eingeschränkt, obwohl sie maximale oralmedikamentöse Therapie mit ACE-Hemmer (Angiotensin-Converting-Enzym-Antagonisten), Diuretika und Digitalis bekamen.
- b. Die Hämodynamik der Patienten zeigte einen niedrigen Herz-Index ($< 2.5 \text{ L/min/m}^2$) und einen höheren PCWP $>20 \text{ mm Hg}$.
- c. CMP Patienten die einen erhöhten peripheren Gefäßwiderstand aufweisen.

Die Alprostadil (PGE1) Infusionstherapie:

Alprostadil (PGE1) ist ein Medikament, das ursprünglich wegen seinen guten vasodilatatorischen Effekt bei der Behandlung von Neugeborenen mit (anatomischen) kardio - pulmonalen Mißbildungen Verwendung fand. Weiterer eingeschränkter Einsatz von Alprostadil (PGE1) war bei sexuell - erektilen Dysfunktion.

Alprostadil(PGE1) gehört aber nicht zur Standardtherapie der Kardiomyopathie, wurde jedoch wegen seiner guten vasodilatatorischen Wirkung bei Patienten mit Kardiomyopathie und erhöhen peripheren Gefäßwiderstand als adjuvante Therapie zur Entlastung der Herzens bis zur Herztransplantation verwendet.

Infusionstherapie erfolgte unter laufender Messung der hämodynamischen Parameter. Es zeigte sich eine deutliche Verbesserung der hämodynamischen Parameter im Vergleich zu den Ausgangswerten mit gleichzeitiger Verbesserung der klinischen Symptomatik.

In dieser klinisch-experimentellen Studie wurde die Alprostadil (PGE 1) Infusionstherapie bei Patienten im Endstadium der Herzinsuffizienz im Sinne einer pharmakologischen Überbrückung bis zur HTX verwendet. Interessanter Weise wurde bei dieser Gruppe von Patienten eine deutliche Verbesserung des klinischen Zustands mit Steigerung der Auswurffraktion und des Herzminutenvolumens verbunden mit einer Reduzierung des NYHA-Stadiums sowie der pathologischen Drücke im Lungenkreislauf.

008926

Die Alprostadil(PGE 1) Infusionen erfolgte über eine zentralen Rechtsherzkatheter (Hickman Katheter) mit einer anfänglichen Dosis von 2.5 ng/kg/min bis die maximal tolerierte Dosis (MTD) erreicht wurde. MTD war die Dosis bei der eine der folgenden Nebenwirkungen auftraten: Muskelschmerzen, Knochenschmerzen, Blutdruckabfall, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Kopfschmerzen oder andere Nebenwirkungen. Unter der MTD (29 ± 1 ng/kg/min) wurden die hämodynamischen Parameter dokumentiert. Die MTD wurde in den folgenden 12 Stunden halbiert und nach der Stabilisierung der Hämodynamik wurde die Therapie mit einer tragbaren Pumpe zu Hause fortgesetzt.

5. Medikament mit nicht bekannter Wirkung

Die Verbesserung der allgemeinen und klinischen Symptomatik unter Alprostadil(PGE1) Therapie wurde ausschließlich auf periphere Vasodilatation zurückgeführt. Eine periphere Vasodilation wäre aber ebenso mit anderen Medikamenten erreichbar, außerdem kann eine Vasodilation allein bei Patienten mit reduzierter Herzfunktion einen eher negativen hämodynamischen Effekt verursachen. Der genaue Wirkmechanismus, der zu diesen positiven Effekten bei Alprostadil (PGE 1) Therapie bei Patienten mit Kardomyopathie führt, war jedoch nicht bekannt.

6. Arbeitshypothese

Meine Hypothese war es, daß ein solch positiver Effekt nicht nur durch Vasodilation erklärbar ist. Ich war der Meinung, daß andere funktionelle Prozesse im Sinne einer besseren Versorgung der Herzmuskelzellen verantwortlich sind.

Ein möglicher Grund könnte eine effizientere Sauerstoffversorgung der Myozyten sein. Das würde eine vermehrte Blutzufuhr voraussetzen. Diese ist allerdings von den vorhandenen Gefäßen und Kapillaren abhängig. Dies würde im Falle einer Steigerung der Blutzufuhr nach Alprostadil (PGE 1) Infusionstherapie eine Neovaskularisation bei den behandelten Patienten voraussetzen. Daher war es aus meiner Sicht schlüssig die Gefäßdichte zu ermitteln.

Um die Frage zu beantworten, ob nun die Alprostadil (PGE1) Infusionstherapie mit Neovaskularisation einhergeht, habe ich nach der HTX die explantierten Herzen von Patienten mit vorangegangener Alprostadil (PGE 1) Infusionstherapie und von Patienten ohne Alprostadil (PGE 1) Therapie immunhistochemisch untersucht und die Kapillardichte verglichen:

026926

1. Neovaskularisation:

Aus den unten näher ausgeführten Ergebnissen ist ersichtlich, daß überraschend Alprostadil behandelten Patienten Neovaskularisation und damit eine Verbesserung der Organdurchblutung vorhanden ist.

2. Im Unterschied zur gängigen Lehrmeinung führt die Alprostadil - Therapie zu

- a) Neuer Kapillarausbildung und Verbesserung der Organdurchblutung.
- b) Gleichzeitig reduziert sie den pathologischen Fibrosegrad.
- c) Einer Ausbildung von Tunnelkapillaren.
- d) Regression der Muskelhypertrophie bei chronischen Herzinsuffizienz.
- e) Die Neovaskularisation geht einher mit vermehrter VEGF Produktion und auch andere Wachstumsfaktoren wie TGF β , PDGF, FGF daran beteiligt.

Erhöhung des Herz-Index bei chronischer Herzinsuffizienz.

- f) Erhöhung der Auswurffraktion bei chronischen Herzinsuffizienz.
- g) Ausschwemmung von Lungenödemen bei chronischer Herzinsuffizienz.
- i) Senkung der erhöhten Drücke im kleinen Kreislauf bei chronischer Herzinsuffizienz.
- j) Steigerung des Blutdrucks bei chronischer Herzinsuffizienz.
- k) Verbesserung der Atemnot und Rückgang des NYHA-Stadiums.
- m) Abbau der Muskelhypertrophie bei Hypertonie.

3. Gegenstand des Patentes :

Die Verwendung der Alprostadil(PGE 1) Therapie zur Behandlung von:

- chronischer Herzinsuffizienz und Kardiomyopathie
- zur Neovaskularisation (Ausbildung von neuen Kapillaren),
- Regression der Hypertrophie
- d) Senkung des Fibrosegrades.

7. Immunohistochemie

Jedes explantierte Herz wurde in drei gleich große Stücke, nämlich in Spitze, mittlerer Teil und Basis geteilt. Die Schnittführung erfolgte transmural durch den mittleren Teil des Gewebes für immunohistochemische Analysen wurden sofort nach der Entnahme in der üblichen Methode konserviert.

026926

Die Kapillardichte wurde getrennt im Subepicardium, Myocardium und dem Subendocardium bestimmt. Die Bestimmung der Kapillardichte / mm², wurde getrennt anhand anti-CD34, von Willebrand- Factor (vWF), vascular- endothelial-growth-factor (VEGF) , Ki67 (MIB 1) und Sirius Rot, immunhistochemisch gefärbter Paraffinschnitte durchgeführt.

8. Ergebnisse

Die Hämodynamischen Parameter vor der Alprostadil (PGE 1) Therapie waren deutlich schlechter in der Alprostadil (PGE 1) Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe bei einem vergleichbaren mittleren Alter (52.33 ± 11.89 versus 49.88 ± 20.42 Jahre, $p = 0.76$). Die Patienten der Alprostadil (PGE

1)Therapie hatten einen bedeutend niedrigeren CI (1.64 ± 0.29 L/min/m² gegenüber 2.39 ± 0.26 L/min/m², $p < 0.0001$), und einen höheren PVRI (605.11 ± 149.80 dyn x Sek x cm-5 x m-2 gegenüber 372.75 ± 84.63 dyn x Sek x cm-5 x m-2, $p = 0.0015$). Beide Gruppen hatten abgesehen von der Alprostadil (PGE 1)Therapie eine vergleichbare medikamentöse Behandlung.

Die Kapillardichte im Subepicardium, Myocardium und Subendocardium von transmuralen Schnitten wurde quantitativ bestimmt und verglichen. Patienten, die eine Alprostadil (PGE 1) Infusionen bekamen, hatten deutlich mehr Kapillaren ($p < 0.001$) pro mm² verglichen mit der Kontrollgruppe. Die Kapillardichte im Subepicardium, Myocardium und Subendocardium von der Kontrollgruppe betrug 608.56 ± 91.32 Kapillaren/mm² (sEpi), 542.44 ± 197.20 Kapillaren/mm² (sEndo), und 452.22 ± 101.99 Kapillaren/mm² (Myo) in den drei transmural-Arealen. Alprostadil (PGE 1)-behandelte Patienten hatten im Vergleich dazu ungefähr 50% mehr Kapillaren als die Kontrollgruppe mit 1168.11 ± 165.04 Kapillaren/mm² (sEpi), 1066.00 ± 94.63 Kapillaren/mm² (sEndo), und 974.56 ± 87.12 Kapillaren/mm² (Myocard).

Spezifische immunhistochemische Kapillarmarker

CD 34, endothelialer Zellmarker

CD 34 wird von allen Endothelzellen in normalem Gewebe exprimiert. CD 34 wird auch zum Nachweis von Endothelien benutzt. Ich fand, daß die Patienten nach Alprostadil(PGE 1) Therapie deutlich mehr anti-CD34 reaktive Endothelien (Abb.1) verglichen zur Kontrollgruppe aufwiesen (Subepicardium: 599.22 ± 107.17 mm² gegenüber 322.89 ± 160.64 mm²-Zellen, $p < 0.001$; Myocardium: 482.11 ± 79.86 mm² vs. 227.22 ± 49.30 mm², $p < 0.0001$; Subendocardium: $482.11 \pm$

006.006

79.86 mm² gegenüber 227.22 ± 49.30 mm², p <0.0001); Subendocardium: 551.67 ± 107.74 mm² gegenüber 308.56 ± 193.86 mm², p <0.01).

Faktor VIII Related Antigen, Von Willebrand Faktor (vWF)

Als zweiter pan-Endothelzell-spezifischer Marker wurde Factor VIII immunohistochemisch untersucht. Die Herzen von CMP-Patienten nach Alprostadiol(PGE 1) Infusionstherapie zeigten bedeutend mehr anti-vWF reaktive Endothelien (Abb.2) verglichen mit der Kontrollgruppe (Subepicardium: 425.56 ± 134.17 mm² gegenüber 192.22 ± 77.88 mm²-Zellen, p <0.001; Myocardium: 360.00 ± 52.31 mm² gegenüber 159.89 ± 61.00 mm² p <0.0001; Subendocardium: 408.00 ± 80.00 mm² gegenüber 163.89 ± 47.52 mm², p <0.0001)

S-1(Proliferationsmarker)

S-1 (anti-Ki67), ist ein Antikörper der nur mit Zellen reagiert die nicht in G0 des Zellzykluses sind und wird üblicher Weise als Mitose- oder Proliferationsmarker eingesetzt. Er zeigt eine charakteristische, deutliche nukleäre Reaktivität bei mitotischen Zellen.

Bei der Gruppe der Patienten mit Alprostadiol(PGE 1) Infusionstherapie war die Anzahl der positiven Endothelzellen(Abb.3) in allen Schichten des Herzmuskels deutlich höher verglichen mit der Kontrollgruppe: (Subepicardium: 20.22 ± 4.87 pro mm² gegenüber 8.11 ± 2.67 pro mm², p <0.0001; Myocardium: 15.44 ± 4.64 pro mm² gegenüber 5.78 ± 2.11 pro mm², p <0.0001; Subendocardium: 17.84 ± 4.23 pro mm² gegenüber 6.89 ± 2.21 pro mm²).

Anti-VEGF-Immunoreaktivität von Kapillaren

VEGF ist beschrieben als spezifischer Wachstumsfaktor für Endothelzellen. Alprostadiol(PGE 1) behandelte Patienten zeigten bedeutend mehr VEGF-positive Kapillaren/mm² als die Kontrollgruppe (Abb.4) in allen drei untersuchten Abschnittsebenen (Subepicardium: 101.2 ± 5.5/mm² gegenüber 38.1 ± 7.2 -VEGF positive Zellen/mm², p <0.0001; Myocardium 76.2 ± 4.9/ mm² gegenüber 20.6 ± 4.9/ mm², p <0.0001; Subendocardium: 89.1 ± 5.7/ mm² gegenüber 27.8 ± 5.1/ mm², p <0.0001).

Damit ist bewiesen, daß im Unterschied zur gängigen Lehrmeinung die Alprostadiol (PGE 1) Therapie zu einer Neovaskularisation des Herzens bei Patienten mit CMP führt. Diese Eigenschaften sprechen für

die Alprostadiol (PGE 1) Therapie als Standardtherapie bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und Kardiomyopathie.

0026926

Patentansprüche

1. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Herzkrankheiten
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von chronischer Herzinsuffizienz und / oder Kardiomyopathie
3. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Neovaskularisation
4. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Senkung des Fibrosegrades
5. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Regression der Hyperthrophie
6. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Hirninfarkt
7. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von peripheren arteriellen Verschlußkrankheiten
8. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von diabetischer Angiopathie
9. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung der systemischen Lungenerkrankungen.
10. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von chronischer Niereninsuffizienz
11. Verwendung von Alprostadil zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von chronischer Leberinsuffizienz

006926

Zusammenfassung

schrieben wird die Verwendung von *Alprostadil* (Prostaglandin E 1) als Mittel zur weiteren therapeutischen Indikationen in der Behandlung von Herzkrankheiten, insbesonders bei chronischer Herzinsuffizienz und Kardiomyopathie beziehungsweise zur Anregung der Angioneogenese (Ausbildung von neuen Kapillaren) sowie Regression der Muskelhypertrophie und zur Senkung des Fibrosegrades.

A1635/99-106908

Fibrose und Muskel-Masse (Sirius-Rot-Färbung)

Die Bestimmung des Fibrosegrads und des Herzmuskelanteils bei Alprostadil (PGE 1) behandelten Patienten (Abb.5) gegenüber der Kontrollgruppe zeigte, daß die Alprostadil (PGE1) Infusionstherapie den Fibrosegrad bei Patienten mit dilatativen CMP deutlich verringert ($15.35 \pm 10.32\%$ gegenüber $6.89 \pm 3.59\%$, $p < 0.05$, bei einem vergleichbaren Herzmuskelanteil ($72.69 \pm 5.25\%$ gegenüber $68.75 \pm 6.23\%$).

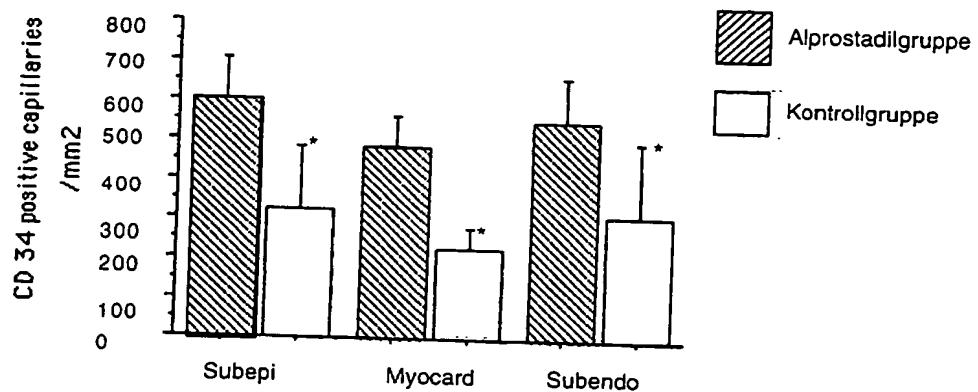


Abbildung 1. CD 34 positive Kapillaren im Subepicardium (Subepi), Myocardium (Myocard) und Subendocardium (Subendo) bei Alprostadil (PGE1) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollengruppe.

A1635/99-1-926:

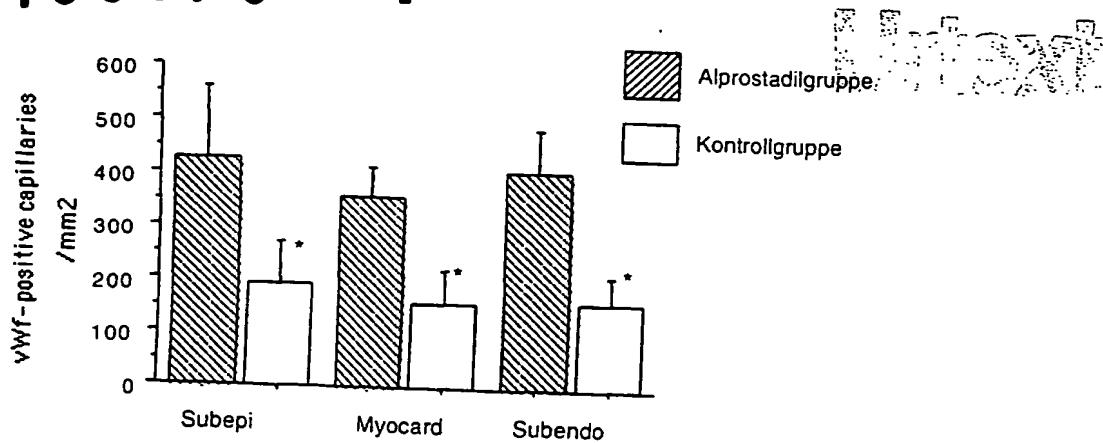


Abbildung 2. vWF- positive Kapillaren im Subepicardium (Subepi), Myocardium (Myocard) und Subendocardium (Subendo) bei Alprostadiol (PGE1) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

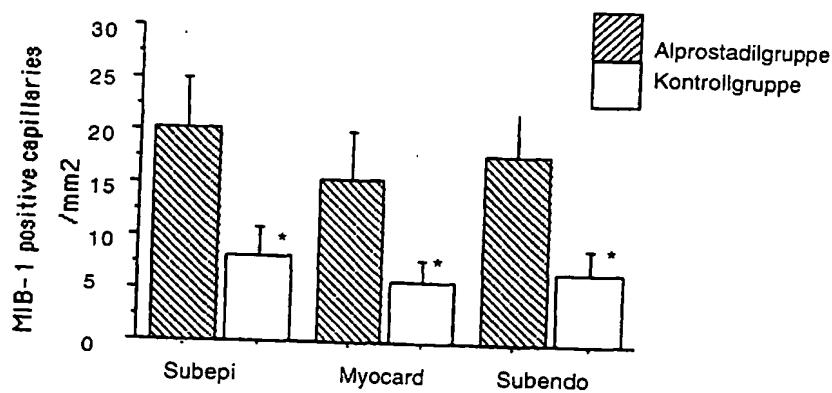


Abbildung 3. MIB-1- positive Endothelzellen im Subepicardium (Subepi), Myocardium (Myocard) und Subendocardium (Subendo) bei Alprostadiol (PGE1) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

A1635/99-18.006

Ultext

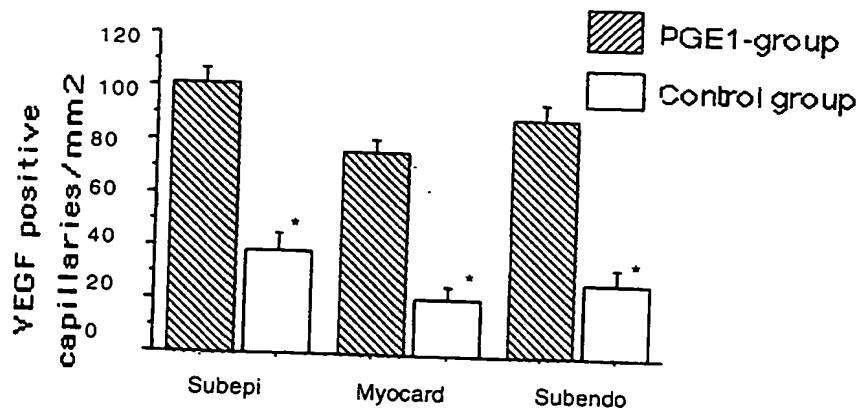


Abbildung 4. VEGF-positive positive Kapillaren im Subepicardium (Subepi), Myocardium (Myocard) und Subendocardium (Subendo) bei Alprostadil (PGE1) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

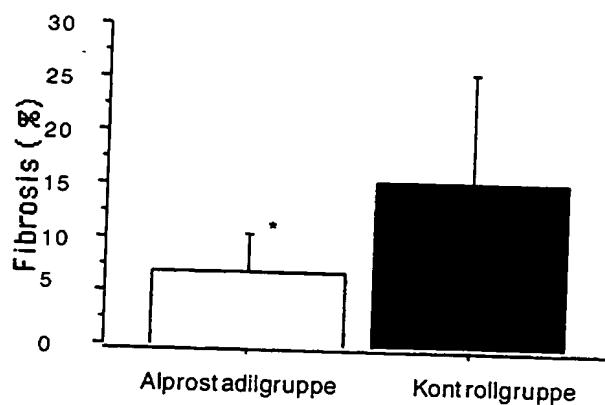


Abbildung 5. Fibrosegrad bei Alprostadil (PGE1) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.